

**PROMOTOR AGENT FOR ANTI-CARCINOGENESIS**

Patent Number: JP2000239169  
Publication date: 2000-09-05  
Inventor(s): YOSHIDA TAKASHI; HATANO TSUTOMU; ITO HIDEYUKI; KUBO NAOKI; SUGITA DAIGO; SHIMURA SUSUMU; ITOU YOSHIO  
Applicant(s): LOTTE CO LTD  
Requested Patent: ☒ JP2000239169  
Application Number: JP19990037703 19990216  
Priority Number (s):  
IPC Classification: A61K31/7028; A61P35/00; A61P43/00  
EC Classification:  
Equivalents:

---

**Abstract**

---

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To obtain the subject safe agent suppressing a carcinogenesis promoter activity, useful for preventing the carcinogenesis, and also having no adverse effect by containing a specific megastigmane glycoside.

**SOLUTION:** This agent contains a megastigmane glycoside of the formula (R is H or OH; R1 is a monosaccharide or disaccharide), [concretely, roseoside, (6S,9R)-bomifoliol-9-O- $\beta$ -D-apiofranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside, or the like.]. The above megastigmane glycoside is preferably originated from an edible plant such as a loquat (*Eriobotrya japonica*) and *Alangium premnifolium*, and is obtained e.g. by extracting the plant such as the leaves of the loquat, or the like, with an organic solvent such as ethanol. As to its dosage, in the case of e.g. oral administration, usually approximately 10-1,000 mg/kg body weight is administered daily over one to several times.

---

Data supplied from the esp@cenet database - I2

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2000-239169

(P2000-239169A)

(43) 公開日 平成12年9月5日(2000.9.5)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テーマコード(参考)	
A 6 1 K 31/7028		A 6 1 K 31/70	6 0 7	4 C 0 5 7
A 6 1 P 35/00		31/00	6 3 5	4 C 0 8 6
43/00			6 4 3 D	4 C 0 8 8
// A 6 1 K 35/78		35/78	H	
			C	
審査請求 未請求 請求項の数 6 O L (全 6 頁) 最終頁に続く				

(21) 出願番号 特願平11-37703

(22) 出願日 平成11年2月16日(1999.2.16)

(71) 出願人 390002990

株式会社ロッテ

東京都新宿区西新宿3丁目20番1号

(72) 発明者 吉田 隆志

岡山県岡山市津島中1-1-1

(72) 発明者 波多野 力

岡山県岡山市津島中1-1-1

(72) 発明者 伊東 秀之

岡山県岡山市津島中1-1-1

(74) 代理人 100062476

弁理士 原田 信市

最終頁に続く

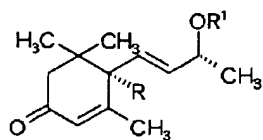
(54) 【発明の名称】 抗発癌プロモーター剤

(57) 【要約】

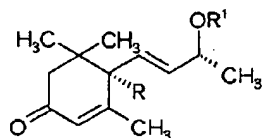
【課題】 発癌プロモーターの作用を抑制し、発癌の予防に有用で、かつ、副作用の無い安全な抗発癌プロモーター剤を提供すること。

【解決手段】 一般式〔I〕

【化1】



(式中、Rは水素あるいは水酸基、R<sup>1</sup>は単糖類あるいは二糖類を示す。)で表されるメガスチグマン配糖体を有効成分とする抗発癌プロモーター剤。



(式中、Rは水素あるいは水酸基、R<sup>1</sup>は単糖類あるいは二糖類を示す。)で表されるメガスチグマン配糖体が、発癌プロモーターの作用を抑制し、発癌の予防に有用であることを見出し本発明を完成した。

【0008】すなわち、本発明は、一般式【I】(式中、Rは水素あるいは水酸基、R<sup>1</sup>は単糖類あるいは二糖類を示す。)で表されるメガスチグマン配糖体を有効成分とする抗発癌プロモーター剤である。また、メガスチグマン配糖体が、上記一般式【I】中、RがOH、R<sup>1</sup>がグルコピラノースであるロセオシド、RがOH、R<sup>1</sup>がアピオフラノシルグルコピラノースである(6S, 9R)- $\beta$ -D-アピオフラノシル-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-グルコピラノシド、RがH、R<sup>1</sup>がグルコピラノースである(6R, 9R)-3-オキソ- $\alpha$ -イオニル-9-O- $\beta$ -D-グルコピラノシド、RがH、R<sup>1</sup>がキシロピラノシルグルコピラノースである(6R, 9R)-3-オキソ- $\alpha$ -イオニル-9-O- $\beta$ -D-キシロピラノシル-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-グルコピラノシドをそれぞれ有効成分とする抗発癌プロモーター剤である。

【0009】

【発明の実施の形態】一般式【I】で表されるメガスチグマン配糖体はビワ(*Eriobotrya japonica*)の葉等の植物から抽出分離することができる。抽出に使用される有機溶媒としては、アルコール、エーテル、アセトン、ヘキサン、クロロホルム、トルエン、酢酸エチル、テトロヒドロフラン等が挙げられるが、メガスチグマン配糖体が抽出されればよくこれらに限定されるものではない。実際には、これらの溶媒の中から1種または2種以上を選択して使用するが、安全性の見地からすると、エタノール、アセトンまたは酢酸エチル等、特に、飲用にも供されているエタノールを使用することが好ましい。さらに好適には、エタノールを適当な割合で水と混合して使用するとよい。

【0010】植物体はそのままの形態で抽出に供してもよいが、抽出効率を高めるため、好ましくは裁断または粉碎して抽出に供するとよい。抽出の方法は、植物体1kgに対して1~50リットル、好ましくは10リットルの抽出溶媒を加え、1日~1ヶ月室温に放置する。必要に応じて、放置の途中で攪拌してもよい。また、抽出溶媒は加温して使用することもできる。抽出後は植物体(抽出残渣)と抽出溶媒(抽出液)を濾過あるいは沈降法等により分離する。好ましくは、抽出残渣は同様の抽出操作を2~4回程度繰り返すとよい。全抽出液を集めて、これを濃縮乾燥して粗抽出物を得る。

【0011】その後、上記粗抽出物を、各種クロマトグラフィーを用いて分離精製し、前記一般式【I】で表されるメガスチグマン配糖体を得られる。具体的には、一般式【I】中、RがOH、R<sup>1</sup>がグルコピラノースのロセオシド、RがH、R<sup>1</sup>がアピオフラノシルグルコピラノースの(6S, 9R)- $\beta$ -D-アピオフラノシル-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-グルコピラノシド、RがH、R<sup>1</sup>がグルコピラノースの(6R, 9R)-3-オキソ- $\alpha$ -イオニル-9-O- $\beta$ -D-グルコピラノシド、RがH、R<sup>1</sup>がキシロピラノシルグルコピラノースの(6R, 9R)-3-オキソ- $\alpha$ -イオニル-9-O- $\beta$ -D-キシロピラノシル-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-グルコピラノシド等が得られる。

【0012】クロマトグラフィーの方法としては、吸着クロマトグラフィー、液体クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、分配クロマトグラフィー、液々抽出等が例示できる。目的の化合物を得ることができれば特に限られるものではないが、Diaion HP-20、Toyopearl HW-40、MC I-gel CHP-20P、Sephadex LH-20、YMC-gel ODS AQ 120-50S等を充填したカラムを用いることが好ましい。ただし、本発明はこれらによって限定されるものではなく、他の植物、微生物から抽出されたものや、化学合成品であっても何ら問題はない。

【0013】本発明の抗発癌プロモーター剤は、その有効成分である前記一般式【I】で表されるメガスチグマン配糖体をそのまま直接使用してもよいが、製薬上許容されるキャリア等の製剤用の添加剤と混合して医薬製剤の形で、もしくは、一般の医薬部外品等に混合して、経口的、非経口的に投与・摂取することができる。その具体的形態としては、錠剤、カプセル剤、散剤、坐剤、直腸軟膏、注射剤、ローション、ハンドクリーム等が例示されるが、必ずしもこれらの形態に限るものではない。

【0014】本発明の有効成分であるメガスチグマン配糖体の投与量としては、被投与者の体重や投与形態、投与部位により変わりうるが、例えば、経口投与の場合には、通常10~1000mg/kg体重程度を1日1回または数回にわたって投与する。10mg/kgより低い濃度の使用では効果が不十分である場合がある。

【0015】以下に、本発明をさらに詳細に説明するため実施例を挙げるが、本発明はこれら実施例によって何ら限定されるものではない。

【0016】〔実施例1〕化合物の調製方法：粉碎したビワの生葉1kgを70%アセトン水5リットルで2回浸漬抽出し、抽出液を集めてロータリーエバポレーターを用いて減圧濃縮した後凍結乾燥し、ビワ葉粗抽出物98gを得た。このビワ葉粗抽出物を水1リットルに懸濁し、等量のクロロホルム、酢酸エチル、ブタノールで順次液々抽出し、ブタノール相をロータリーエバポレータ

ーを用いて減圧濃縮した後凍結乾燥し、ブタノール画分28gを得た。このブタノール画分をDiaion HP-20、Toyopearl HW-40、MCigel CHP-20P、Sephadex LH-20、YMC-gel ODS AQ 120-50Sを用いたカラムクロマトグラフィーに順次供し、ロセオシド(40mg)、(6S, 9R)-ボミフォリオール-9-O-β-D-アピオフラノシル-(1→6)-β-D-グルコピラノシド(25mg)、(6R, 9R)-3-オキソ-α-イオニル-9-O-β-D-グルコピラノシド(55mg)、(6R, 9R)-3-オキソ-α-イオニル-9-O-β-D-キシロピラノシル-(1→6)-β-D-グルコピラノシド(35mg)の4種のメガスチグマン配糖体を得た。

【0017】〔抗発癌プロモーター活性試験〕実施例1で得られた4種のメガスチグマン配糖体について、エプスタイン・バーウイルス活性化抑制試験法(生物化学実験法38 食品中の生体機能調節物質研究法p.38-41, 学会出版センター, 1996)を用いて、抗発癌プロモーター効果を評価した。この試験方法は、ラジ細胞(DNA型癌ウイルスであるエプスタイン・バーウイルスが感染したバーキットリンパ腫由来の細胞株)を、発癌

プロモーターであるテトラデカノイルホルボールアセテート(TPA)の存在下で培養し早期抗原を発現させる過程において、被験サンプルの抗原発現抑制効果を評価するものである。ラジ細胞の培養液としてPRMI1640に胎仔血清及び抗生物質を加えたものを使用した。この培養条件下でのエプスタイン・バーウイルス早期抗原自然発生率は0.1%以下であった。1×10<sup>6</sup>/mlの濃度に調製したラジ細胞を、4mMのn-酪酸、20ng/ml(32pmol)のTPA、及び、1000mol ratio/TPA(TPAに対してモル比で1000倍濃度)の被験物質を加えた培養液中で、37℃、5%CO<sub>2</sub>の条件下、48時間培養した。上咽頭痛患者血清を用いた間接蛍光抗体法にてエプスタイン・バーウイルス早期抗原を発現した細胞を検出し、陽性細胞の比率を、被験物質を加えなかったコントロールに対して算出し、ウイルスゲノムの再現阻害活性とした。さらに、被験物質の濃度を500mol ratio/TPA、100mol ratio/TPA、10mol ratio/TPAに変化させて同活性を測定した。結果を表1に示した。

【0018】

【表1】

メガスチグマン配糖体の抗発癌プロモーション活性

Compounds	Concentration (mol ratio/TPA)			
	1000	500	100	10
ロセオシド	0	20.2	51.7	88.2
(6R, 9R)-ボミフォリオール-9-O-β-D-アピオフラノシル-(1→6)-β-D-グルコピラノシド	15.6	37.8	64.0	96.5
(6R, 9R)-3-オキソ-α-イオニル-9-O-β-D-グルコピラノシド	8.1	24.4	57.3	92.5
(6R, 9R)-3-オキソ-α-イオニル-9-O-β-D-キシロピラノシル-(1→6)-β-D-グルコピラノシド	11.8	32.4	63.1	95.7
(-) -エピガロカテキン-3-O-ガラート	16.4	44.9	68.1	97.7

いずれのメガスチグマン配糖体も、既に抗発癌プロモーション活性を有すると報告されているエピガロカテキンガラートよりも優れた抗発癌プロモーション活性を示し

た。

【0019】

〔実施例2〕錠剤

- |                         |       |
|-------------------------|-------|
| (1) ロセオシド               | 5 g   |
| (2) 直打用微粒No.209(富士化学社製) | 7 g   |
| メタケイ酸アルミン酸マグネシウム        | 20%   |
| トウモロコシデンプン              | 30%   |
| 乳糖                      | 50%   |
| (3) 結晶セルロース             | 6 g   |
| (4) CMCカルシウム            | 1.8 g |
| (5) ステアリン酸マグネシウム        | 0.2 g |

(1) から(4)までを均一に混合した後に、(5)を

添加してさらに混合し、その混合末を打錠して、1錠2

00mgの錠剤とした。この錠剤は、必要に応じて、通常用いられる胃溶性フィルムコーティング剤（例えば、ポリビニルアセタールジエチルアミノアセテート）また

は食用性着色剤でコーティングしてもよい。  
【0020】

〔実施例3〕カプセル剤

- |                                                                |      |
|----------------------------------------------------------------|------|
| (1) (6S, 9R)-ボミフォリオール-9-O-β-D-ア<br>ビオフラノシル- (1→6)-β-D-グルコピラノシド | 10g  |
| (2) 乳糖                                                         | 9.6g |
| (3) ステアリン酸マグネシウム                                               | 0.4g |

上記成分を均一に混合し、その混合末をハードゼラチンカプセルに2000mgずつ充填した。

【0021】

〔実施例4〕注射剤

- |                                            |         |
|--------------------------------------------|---------|
| (1) (6R, 9R)-3-オキソ-α-イオニル-9-O-β-D-グルコピラノシド | 100mg   |
| (2) ブドウ糖                                   | 100mg   |
| (3) 注射用水                                   | 全量で10ml |

(1)と(2)を(3)に溶解した液をメンブランフィルターで濾過後に再び除菌濾過を行い、その濾過液を無菌的にバイアルに分注し、窒素ガスを充填した後、密封

して静脈内注射剤とした。

【0022】

〔実施例5〕ローション

- |                                                                |      |
|----------------------------------------------------------------|------|
| (1) (6R, 9R)-3-オキソ-α-イオニル-9-O-β-D-キシロピラノシル- (1→6)-β-D-グルコピラノシド | 1g   |
| (2) パラオキシ安息香酸エステル                                              | 0.5g |
| (3) プロピレングリコール                                                 | 1g   |
| (4) 濃グリセリン                                                     | 1g   |
| (5) クエン酸ナトリウム                                                  | 0.5g |
| (6) 香料                                                         | 適量   |
| (7) 精製水                                                        | 95ml |

(1)から(6)を(7)に溶解し、ローションとした。

活性を有し、発癌プロモーターの作用を抑制することができるので、抗発癌プロモーター剤として発癌の予防に有用であり、かつ、その安全性は既に確立されているところである。

【0023】

【発明の効果】本発明の有効成分である一般式〔I〕のメガスチグマン配糖体は、優れた抗発癌プロモーション

【手続補正書】

【提出日】平成11年2月17日(1999.2.17)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0016

【補正方法】変更

【補正内容】

【0016】〔実施例1〕化合物の調製方法：粉碎したビワの生葉1kgを70%アセトン水5リットルで2回浸漬抽出し、抽出液を集めてロータリーエバポレーターを用いて減圧濃縮した後凍結乾燥し、ビワ葉粗抽出物98gを得た。このビワ葉粗抽出物を水1リットルに懸濁し、等量のクロロホルム、酢酸エチル、ブタノールで順次液々抽出し、ブタノール相をロータリーエバポレーターを用いて減圧濃縮した後凍結乾燥し、ブタノール画分

28gを得た。このブタノール画分をDiaion HP-20、Toyopearl HW-40、MCigel CHP-20P、Sephadex LH-20、YMC-gel ODS AQ 120-50Sを用いたカラムクロマトグラフィーに順次供し、ロセオシド(40mg)、(6S, 9R)-ボミフォリオール-9-O-β-D-アビオフラノシル- (1→6)-β-D-グルコピラノシド(25mg)、(6R, 9R)-3-オキソ-α-イオニル-9-O-β-D-グルコピラノシド(55mg)、(6R, 9R)-3-オキソ-α-イオニル-9-O-β-D-キシロピラノシル- (1→6)-β-D-グルコピラノシド(35mg)の4種のメガスチグマン配糖体を得た。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0018

【0018】

【補正方法】変更

【表1】

【補正内容】

## メガスチグマン配糖体の抗発癌プロモーション活性

Compounds	Concentration (mol ratio/TPA)			
	1000	500	100	10
ロセオシド	0	20.2	51.7	88.2
(6S, 9R)-ボミフォリオール-9-O-β-D- アピオフラノシル-(1→6)-β-D-グルコピラノシド	15.6	37.8	64.0	98.5
(6R, 9R)-3-オキソ-α-イオニル-9-O- β-D-グルコピラノシド	8.1	24.4	57.3	92.5
(6R, 9R)-3-オキソ-α-イオニル-9-O-β-D- キシロピラノシル-(1→6)-β-D-グルコピラノシド	11.8	32.4	63.1	95.7
(-) -エピガロカテキン-3-O-ガラート	16.4	44.9	68.1	97.7

いずれのメガスチグマン配糖体も、既に抗発癌プロモーション活性を有すると報告されているエピガロカテキンガラートよりも優れた抗発癌プロモーション活性を示した。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0019

【補正方法】変更

【補正内容】

【0019】

〔実施例2〕錠剤

(1) ロセオシド	5 g
(2) 直打用微粒No.209 (富士化学社製)	7 g
メタケイ酸アルミン酸マグネシウム	20%
トウモロコシデンプン	30%
乳糖	50%
(3) 結晶セルロース	6 g
(4) CMCカルシウム	1.8 g
(5) ステアリン酸マグネシウム	0.2 g

(1) から (4) までを均一に混合した後に、(5) を添加してさらに混合し、その混合末を打錠して、1錠200mgの錠剤とした。この錠剤は、必要に応じて、通

常用いられる胃溶性フィルムコーティング剤 (例えば、ポリビニルアセタールジエチルアミノアセテート) または食用性着色剤でコーティングしてもよい。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.<sup>7</sup>  
C07H 15/18

識別記号

FI  
C07H 15/18

テームコード (参考)

(72)発明者 久保 直樹  
神奈川県津久井郡相模湖町寸沢嵐941-6  
佐藤ハイツ A-105

(72)発明者 杉田 大悟  
東京都練馬区旭町3-29-10

(72)発明者 志村 進  
東京都八王子市元八王子町3-2486

(72)発明者 伊東 禧男  
東京都清瀬市野塩3-26-11  
Fターム(参考) 4C057 AA06 BB03 CC01 DD01 JJ19  
4C086 AA01 AA02 EA07 GA17 MA01  
MA04 NA14 ZB26  
4C088 AB12 AB51 BA13 BA32 ZB26



FEE TRANSMITTAL

RECEIVED  
DEC 15 2003  
TECH CENTER 1654/2000

Application of Mark Obukowicz Art Unit 1654  
U.S. Application Serial No. 09/737,892  
Filed December 15, 2000  
Confirmation No. 2003  
Examiner Michael V. Meller  
For SELECTIVE COX-2 INHIBITION FROM EDIBLE PLANT EXTRACTS  
Attorney Docket Number PHA 4140 (3374)

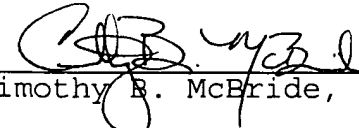
**METHOD OF PAYMENT**

1. ☐ The Commissioner is hereby authorized to charge the indicated fees to Deposit Account No. 19-1345.
- ☐ The Commissioner is hereby authorized to charge any additional fees required under 37 CFR 1.16 and 1.17 to Deposit Account No. 19-1345.
- ☐ Applicant claims small entity status.
2. ☒ Check Enclosed. The Commissioner is hereby authorized to charge any under payment or credit any over payment to Deposit Account No. 19-1345.

**FEE CALCULATION**

1. ☐ BASIC FILING FEE Subtotal (1) \$ \_\_\_\_\_  
(Type: \_\_\_\_\_)
2. ☐ EXTRA CLAIM FEES Subtotal (2) \$ \_\_\_\_\_  
Total Claims \_\_\_\_\_  
Independent Claims \_\_\_\_\_  
Multiple Dependent Claims \_\_\_\_\_
3. ☒ ADDITIONAL FEES Subtotal (3) \$ 180.00  
☐ Surcharge - late filing fee or oath  
☐ Surcharge - late provisional filing fee or cover sheet  
☐ Extension for reply within \_\_\_\_\_ month  
☐ Notice of Appeal  
☐ Filing a Brief in Support of an appeal  
☐ Request for ex parte Reexamination  
☐ Petitions to the Commissioner  
☒ Submission of Information Disclosure Statement  
☐ Recording each patent assignment per property  
☐ Request for Continued Examination  
☐ Other: \_\_\_\_\_

**TOTAL AMOUNT OF PAYMENT** \$ 180.00

  
Timothy B. McBride, Reg. No. 47,781 December 8, 2003  
Date

TBM/sxm

Express Mail Label No. US 327054270 US